

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI .....	iv
PRAKATA .....	v
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
ABSTRAK .....	xviii
<i>ABSTRACT</i> .....	xix
I. PENDAHULUAN .....	20
1.1. Latar Belakang .....	20
1.2. Rumusan Masalah.....	26
1.3. Tujuan Penelitian .....	26
1.4. Manfaat Penelitian .....	27
1.5. Kebaruan Penelitian .....	27
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	30
2.1. Lamtoro Gung.....	30
2.1. Hipertensi.....	34
2.2. <i>Angiotensin Converting Enzyme</i> (ACE) .....	36
2.3. Peptida ACE <i>Inhibitor</i> (ACE-I).....	39
2.5. Kinetika Penghambatan ACE .....	44
2.6. Hidrolisis Protein .....	47
2.6. Perkecambahan .....	49
2.7. Bioavailabilitas .....	56
2.7.1. Pencernaan .....	58
2.7.2. Penyerapan.....	61
III. LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS .....	69
3.1. Landasan Teori.....	69
3.2. Hipotesis .....	71
IV. METODE PENELITIAN.....	72

4.1. Waktu dan Lokasi Penelitian .....	72
4.2. Bahan Penelitian .....	72
4.3. Peralatan Penelitian.....	73
4.4. Prosedur Penelitian .....	73
4.4.1. Tahap I.....	75
4.4.2. Tahap II (Simulasi Pencernaan <i>in vitro</i> ) .....	79
4.4.3. Tahap III (Simulasi Penyerapan <i>in vitro</i> ) .....	82
4.4.4. Ekstraksi Protease Kasar.....	84
4.4.5. Ekstraksi Protein.....	85
4.4.6. Ekstraksi Peptida .....	86
4.5. Metode Analisa .....	86
4.5.1. Analisis Proksimat .....	86
4.5.2. Analisis Protein Terlarut.....	87
4.5.3. Analisis Total Asam Amino .....	87
4.5.4. Analisis Kadar Senyawa Anti Gizi .....	88
4.5.5. Penentuan Aktivitas Crude Protease.....	89
4.5.6. Penentuan Derajat Hidrolisis dan Konsentrasi Peptida .....	91
4.5.7. Pengujian Aktivitas ACE-I.....	92
4.5.8. Distribusi Berat Molekul (BM) .....	93
4.5.9. Identifikasi Peptida (LC-MS/HRMS).....	94
4.5.10. Potensi Biologis Peptida .....	95
4.5.11. Pola Penghambatan ACE metode <i>Lineweaver-Burk</i> .....	96
4.5.12. Klasifikasi Peptida <i>Inhibitor</i> .....	97
4.6. Rancangan Percobaan dan Analisis Data.....	98
V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	100
5.1. Tahap I: Perkecambahan Lamtoro Gung .....	100
5.1.1. Proses perkecambahan Lamtoro Gung .....	100
5.1.2. Karakteristik kimia tepung kecambah Lamtoro Gung.....	103
5.1.3. Aktivitas penghambatan ACE tepung kecambah Lamtoro Gung pada waktu perkecambahan yang berbeda.....	112
5.1.4. Identifikasi dan karakterisasi peptida ACE-I tepung kecambah Lamtoro Gung .....	120
5.2. Tahap II: Simulasi pencernaan <i>in vitro</i> Tepung Kecambah Lamtoro Gung .....	131

5.2.1.	Nilai cerna protein <i>in vitro</i> peptida tepung kecambah Lamtoro Gung.....	131
5.2.2.	Aktivitas ACE-I peptida tepung kecambah Lamtoro Gung saat simulasi pencernaan <i>in vitro</i> .....	133
5.2.3.	Identifikasi dan karakterisasi peptida ACE-I tepung kecambah Lamtoro Gung hasil simulasi pencernaan <i>in vitro</i> .....	138
5.3.	Tahap III: Penyerapan <i>in vitro</i> Tepung Kecambah Lamtoro Gung .	148
5.3.1.	Studi penyerapan peptida secara <i>in vitro</i> .....	148
5.3.2.	Aktivitas ACE-I peptida tepung kecambah Lamtoro Gung selama penyerapan <i>in vitro</i> .....	150
5.3.3.	Identifikasi dan karakterisasi peptida ACE-I tepung kecambah Lamtoro Gung hasil penyerapan <i>in vitro</i> .....	152
5.3.4.	Pola penghambatan ACE .....	155
5.3.5.	Klasifikasi penghambat ACE .....	158
5.1.	Pembahasan Umum .....	161
VI.	Simpulan dan Saran .....	168
6.1.	Simpulan .....	168
6.2.	Saran .....	169
	DAFTAR PUBLIKASI.....	171
	DAFTAR PUSTAKA .....	172
	LAMPIRAN .....	190

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1. Kesamaan, Perbedaan dan Kebaruan Penelitian Dibandingkan dengan Penelitian Lain .....	29
Tabel 2. 1. Kandungan Protein dan Mimosin Biji dan Daun Lamtoro Gung .....	31
Tabel 2. 2. Perbandingan Komposisi Asam Amino pada Sumber Protein Nabati .....	32
Tabel 2. 3. Istilah dalam Konsep Bioavailabilitas .....	57
Tabel 4. 1. Spesifikasi instrumen LC-MS yang digunakan.....	88
Tabel 4. 2. Gradien elusi total asam amino .....	88
Tabel 5. 1. Komposisi proksimat tepung kecambah Lamtoro Gung pada waktu perkecambahan yang berbeda.....	103
Tabel 5. 3. Profil asam amino tepung kecambah Lamtoro Gung selama perkecambahan.....	108
Tabel 5. 4. Komposisi senyawa anti gizi tepung kecambah Lamtoro Gung selama perkecambahan.....	110
Tabel 5. 5. Konsentrasi asam amino peptida tepung kecambah Lamtoro Gung fraksi < 1 dan 1–3,5 kDa .....	124
Tabel 5. 6. Sekuen peptida tepung kecambah Lamtoro Gung fraksi peptida < 1 kDa .....	126
Tabel 5. 7. Sekuen peptida tepung kecambah Lamtoro Gung fraksi peptida 1–3,5 kDa .....	127
Tabel 5. 8. Konsentrasi asam amino peptida tepung kecambah Lamtoro Gung setelah simulasi pencernaan <i>in vitro</i> .....	142
Tabel 5. 9. Sekuen peptida tepung kecambah Lamtoro Gung setelah simulasi pencernaan <i>in vitro</i> fraksi peptida < 1 kDa.....	144
Tabel 5. 10. Sekuen peptida tepung kecambah Lamtoro Gung setelah simulasi pencernaan <i>in vitro</i> fraksi peptida 1–3,5 kDa.....	146
Tabel 5. 11. Konsentrasi asam amino peptida tepung kecambah Lamtoro Gung terserap .....	152

Tabel 5. 12. Sekuen peptida tepung kecambah Lamtoro Gung terserap...	154
Tabel 5. 13. Parameter kinetika peptida ACE-I.....	157

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Tumbuhan Lamtoro Gung .....	30
Gambar 2. 2. Biji Lamtoro Gung .....	31
Gambar 2. 3. Overview struktur tACE.....	37
Gambar 2. 4. Skema representasi struktur primer ACE human (sACE dan tACE).....	38
Gambar 2. 5. Peran ACE (angiotensin-converting enzyme) dan ACE inhibitor dalam sistem renin Angiotensin.....	39
Gambar 2. 6. Skema model pengikatan antara sisi aktif ACE dengan peptida ACE-I sumber: Fan <i>et al.</i> (2018) .....	41
Gambar 2. 7. Skema koordinasi zink ACE I pada sisi aktif tACE dari bank data (108A).....	42
Gambar 2. 8. Struktur asam amino leusin dan isoleusin. ....	43
Gambar 2. 9. Ilustrasi Perkecambahan Kacang Merah ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) .....	54
Gambar 2. 10. Sekresi dan Aktivasi Enzim Pankreas .....	59
Gambar 2. 11. Skema Jalur Penyerapan Peptida Bioaktif menuju Sistem Peredaran Darah. ....	64
Gambar 3. 1. Diagram kerangka berpikir penelitian .....	70
Gambar 4. 1. Skema Tahapan Penelitian .....	74
Gambar 4. 2. Diagram Alir Tahap 1 (Perkecambahan dan Penepungan) ....	76
Gambar 4. 3. Diagram Alir Tahap 1 ( <i>blanching</i> ).....	78
Gambar 4. 4. Diagram Alir Tahap II (simulasi pencernaan <i>in vitro</i> ) .....	80
Gambar 4. 5. Skema Mekanisme Kantong Usus Terbalik .....	83
Gambar 4. 7. Ilustrasi tahapan fraksinasi .....	94
Gambar 5. 1. Imbibisi biji kering Lamtoro Gung.....	100
Gambar 5. 2. Perubahan panjang radikula selama waktu perkecambahan. Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ). ....	102

Gambar 5. 3. Konsentrasi protein terlarut tepung kecambah Lamtoro Gung pada waktu perkecambahan yang berbeda (n = 3). Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ).....	105
Gambar 5. 4. Aktivitas proteolitik tepung kecambah Lamtoro Gung selama perkecambahan (n = 3). Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ).....	113
Gambar 5. 6. Aktivitas ACE <i>inhibitor</i> dan nilai IC <sub>50</sub> tepung kecambah Lamtoro Gung selama perkecambahan (n = 3). Notasi huruf kecil mengindikasikan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antar nilai aktivitas penghambat ACE. Notasi huruf kapital mengindikasikan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antar nilai IC <sub>50</sub> aktivitas penghambat ACE. ....	117
Gambar 5. 8. Konsentrasi peptida tepung kecambah Lamtoro Gung pada setiap fraksi (n = 3). Notasi a dan b mengindikasikan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) pada fraksi peptida yang sama dari sampel yang berbeda. Notasi p, q, r mengidentifikasi perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antara fraksi yang berbeda pada sampel yang sama.....	121
Gambar 5. 9. Distribusi BM tepung peptida kecambah Lamtoro Gung pada setiap fraksi (n = 3). Notasi a dan b mengindikasikan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) pada fraksi peptida yang sama dari sampel yang berbeda. Notasi p, q, r mengidentifikasi perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antara fraksi yang berbeda pada sampel yang sama.....	122
Gambar 5. 10. Aktivitas ACE <i>inhibitor</i> peptida tepung kecambah Lamtoro Gung pada setiap fraksi (n = 3). Notasi a dan b mengindikasikan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) pada fraksi peptida yang sama dari sampel yang berbeda. Notasi p, q, r mengidentifikasi perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antara fraksi yang berbeda pada sampel yang sama. ....	123

- Gambar 5. 11. Nilai cerna protein *in vitro* tepung kecambah Lamtoro Gung (n = 3). Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ). ..... 131
- Gambar 5. 13. Aktivitas ACE *inhibitor* peptida tepung kecambah Lamtoro Gung selama simulasi pencernaan *in vitro* (n = 3). Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ). ..... 136
- Gambar 5. 15. Distribusi BM peptida tepung kecambah Lamtoro Gung pada setiap fraksi setelah simulasi pencernaan *in vitro* (n = 3). Notasi a dan b mengindikasikan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) pada fraksi peptida yang sama dari sampel yang berbeda. Notasi p, q, r mengidentifikasi perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antara fraksi yang berbeda pada sampel yang sama. .... 139
- Gambar 5. 16. Aktivitas ACE *inhibitor* tepung kecambah Lamtoro Gung pada setiap fraksi setelah simulasi pencernaan *in vitro* (n = 3). Notasi a dan b mengindikasikan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) pada fraksi peptida yang sama dari sampel yang berbeda. Notasi p, q, r mengidentifikasi perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antara fraksi yang berbeda pada sampel yang sama. .... 141
- Gambar 5. 17. Persentase peptida terserap selama penyerapan *in vitro* setelah melewati simulasi pencernaan *in vitro* (n=2). Notasi a, b, dan c menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antara 1 sampel yang sama pada segmen usus berbeda. Notasi p, q, dan r menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antara 1 segmen usus yang sama pada sampel berbeda. .... 148
- Gambar 5. 18. Aktivitas ACE *inhibitor* peptida terserap dari usus halus. Hasil yang ditunjukkan merupakan nilai rata-rata dengan standar deviasi (n = 3). Notasi a, b, dan c menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antara 1 sampel yang



sama pada segmen usus berbeda. Notasi p dan q menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) antara 1 segmen usus yang sama pada sampel berbeda. ....	151
Gambar 5. 19. Kinetika penghambatan enzim ACE metode <i>Lineweaver-Burk</i> .....	156
Gambar 5. 20. Aktivitas ACE-I melalui metode preinkubasi dengan ACE. Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $\alpha = 0,05$ ) ( $n = 3$ ). ....	159

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi perkecambahan .....	190
Lampiran 2. Metode Analisis Protein Terlarut .....	194
Lampiran 3. Metode Analisis Asam Fitat .....	195
Lampiran 4. Metode Analisis Tannin.....	197
Lampiran 5. Metode Analisis <i>Inhibitor</i> Tripsin .....	198
Lampiran 6. Metode Analisis Mimosin .....	200